

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1922

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

Robert VÉDRENNE

Moniteur de Bactériologie à l'Institut Pasteur

Ancien externe des Hôpitaux de Paris

Ex-Interne de l'Hôpital Civil de Versailles

Médaille militaire

LE BACTÉRIOPHAGE
CHEZ LE NOURRISSON

Président : M. MARFAN, professeur

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTE DE MÉDECINE

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, rue Racine, 15

1922

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

LE DOYEN : M. ROGER
ASSESEUR : G. POUCHET
PROFESSEURS

	MM.
Anatomie.	NICOLAS
Anatomie médico-chirurgicale	CUNEO
Physiologie.	CH. RICHET
Physique médicale	ANDRÉ BROCA
Chimie organique et Chimie générale	DESGREZ
Bactériologie	BEZANCON
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	BRUMPT
Pathologie et Thérapeutique générales.	MARCEL LABBÉ
Pathologie médicale	RENON
Pathologie chirurgicale.	LECENE
Anatomie pathologique.	LETULLE
Histologie	PRENANT
Pharmacologie et matière médicale	POUCHET
Thérapeutique	CARNOT
Hygiène.	BERNARD
Médecine légale.	BALTHAZARD
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MENETRIER
Pathologie expérimentale et comparée.	ROGER
Clinique médicale	ACHARD
	WIDAL
	GILBERT
	CHAUFFARD
Hygiène et clinique de la 1 ^{re} enfance	MARFAN
Clinique des maladies des enfants.	NOBECOURT
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	CLAUDE
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	JEANSELME
Clinique des maladies du système nerveux.	PIERRE MARIE
Clinique des maladies contagieuses	TEISSIER
	DELBET
Clinique chirurgicale	GOSSET
	LEJARS
	HARTMANN
Clinique ophtalmologique	DE LAPERSONNE
Clinique des maladies des voies urinaires.	LEGUEU
	BAR
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE
	BRINDEAU
Clinique gynécologique.	J.-L. FAURE
Clinique chirurgicale infantile	AUGUSTE BROCA
Clinique thérapeutique.	VAQUEZ
Clinique d'Oto-rhino-laryngologie.	SEBILÉAU
Clinique thérapeutique chirurgicale	PIERRE DUVAL

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.			
ABRAMI	DUVOIR	LARDENNOIS	RATHERY
ALGLAVE	FIESSINGER	LELORIER	RETTERER
BASSET	GARNIER	LEMERRE	RIBIERRE
BAUDOUIN	GOUGEROT	LEQUEUX	RICHAUD
BLANCHETIERRE	GREGOIRE	LEREBoullet	ROUSSY
BRANCA	GUENIOT	LERI	ROUVIERE
CAMUS	GUILLAIN	LEVY-SOLAL	SCHWARTZ(A.)
CHAMPY	GUILLÉMINOT	MATHIEU	TANON
CHEVASSU	HEITZ-BOYER	METZGER	TERBIEN
CHIRAY	JOYEUX	MOCQUOT	TIFFENEAU
CLERC	LABBÉ HENRI	MULON	VILLARET
DEBRE	LAIGNEL-LAVASTINE	OKINCZYC	
DESMAREST	LANGLOIS	PHILIBERT	

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'en rend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA MÈRE

A MON PÈRE

*Trop faible témoignage d'un fils
qui les adore.*

A LA MÉMOIRE DE MES GRANDS-PARENTS

A M. LE PROFESSEUR MARFAN

*En le remerciant du grand hon-
neur qu'il nous a fait en acceptant
la présidence de cette thèse.*

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX DE PARIS

MM. les Professeurs DELBET, BEZANÇON,
JEAN CAMUS

MM. les Docteurs ROBINEAU, RIST, THIROLOIX,
THIBIERGE

A M. LE DOCTEUR E. POZERSKI
de l'Institut Pasteur

A M. F. D'HÉRELLE
de l'Institut Pasteur

A TOUS MES MAITRES DE L'INSTITUT PASTEUR

A MES MAITRES DE L'HOPITAL CIVIL
DE VERSAILLES

A MES AMIS

LE BACTÉRIOPHAGE CHEZ LE NOURRISSON

INTRODUCTION

En septembre 1917, mon Maître, F. d'Herelle, attirait l'attention pour la première fois, sur un phénomène particulier : quelques gouttes d'un filtrat à la bougie Chamberland, de selles d'un convalescent de dysenterie grave à bacilles toxiques, possédait la curieuse propriété de stériliser, en moins de vingt-quatre heures, une culture jeune du bacille de Shiga. Il se produit là une véritable lyse microbienne, éclatement et disparition complète du corps bacillaire.

D'autre part, fait très intéressant, cette propriété est transmissible en série. Une goutte de la culture lysée, filtrée ou non, est à son tour susceptible de lyser une nouvelle culture du bacille de Shiga, et ceci dans un temps beaucoup plus court que la première fois ; une nouvelle goutte du deuxième lysat possède des propriétés lytiques identiques, et ainsi de suite, malgré la dilution extrême qui résulte du passage de tube en tube de la goutte initiale. On obtient de la sorte rapidement un filtrat lytique très actif qui, en quelques heures, éclairecit et stérilise complètement un bouillon ensemencé vingt-quatre heures au préalable de bacilles de Shiga.

Dans un autre genre d'expérience, d'Hérelle mit encore mieux en évidence ce principe lytique.

A la culture jeune des bacilles de Shiga en bouillon, comme précédemment, il ajoute une goutte de son filtrat d'une demi-heure, et ensuite de trente minutes en trente lytique; le mélange est placé à l'étuve à 37°. Au bout minutes jusqu'à dix-huit heures, temps où la clarification du bouillon est complète, on ensemence largement avec une à deux gouttes du mélange culture + filtrat; la surface d'une série de tubes de gélose nutritive inclinée. Après incubation, on voit que la surface du premier tube étalé est couverte d'une nappe de culture confluyente du bacille dysentérique, mais présentant trois à quatre plages circulaires où, semble-t-il, rien n'a poussé. Le tube ensemencé au bout d'une heure présente des plages déjà plus nombreuses. Dans la série des tubes suivants, on voit les plages se multiplier, devenir confluentes, les colonies de bacilles y sont de plus en plus rares, s'échancrent et disparaissent; les avant-derniers tubes semblent stériles sauf quelques rares colonies punctiformes à la partie supérieure extrême, partie souvent desséchée, de la gélose; enfin, les derniers tubes sont absolument dépourvus de bacilles.

Ces plages, en apparence stériles, représentent l'endroit où s'est déposé, lors de l'étalement, une particule du principe bactériolytique, et ceci est aisément montré du reste, en touchant le centre d'une de ces plages avec un fil de platine qui, trempé ensuite dans une culture de bacilles dysentériques, provoque rapidement la dissolution des bactéries.

L'existence d'un principe bactériolytique, filtrable à travers les bougies Chamberland, repiquable en série, sus-

ceptible de donner de véritables colonies sur gélose, s'exaltant par passages successifs sur des bacilles jeunes et agissant à des doses excessivement petites, était donc indéniable.

Quelle pouvait être la nature de ce principe ?

D'Hérelle a pensé, et d'assez nombreux faits sont à l'appui de l'hypothèse, qu'il s'agit là d'un être vivant filtrable, véritable ultra-microbe parasite des bactéries, auquel il a donné le nom de *Bacteriophagum intestinale*, c'est le Bactériophage.

Comme jusqu'ici personne n'a donné de sérieux arguments contre cette théorie, nous l'adopterons entièrement, sans chercher à prendre part aux nombreuses discussions qui ont pu avoir lieu autour de ce principe bactériophage.

Quoi qu'il en soit, des observations nombreuses ont montré que le principe bactériolytique, introduit dans une culture, croît au fur et à mesure que les bactéries disparaissent, que ce principe est détruit par un séjour de vingt minutes à 74-75°. Certaines actions inactives pour les diastases (Bordet a émis de son côté l'opinion que le bactériophage serait un principe diastasique) sont très sensibles pour le bactériophage — la glycérine le tue en huit jours, l'alcool à 95° le tue en quarante-huit heures, une solution de sel neutre de quinine au 1/100 le détruit en quelques minutes, de même qu'il est détruit rapidement par l'alcalinité ou l'acidité des milieux.

D'autre part, le bactériophage, à sec ou en milieu liquide, conserve son activité très longtemps, des mois et même des années.

Le bactériophage ne limite pas son activité au bacille de Shiga, mais de nombreuses bactéries peuvent, suivant

les cas, se trouver lysées sous son influence. On l'a trouvé actif pour tous les autres bacilles dysentériques, pour les bacilles : typhiques, paratyphiques, coli, proteus, pesteux, gallinarum, les bacilles des septicémies hémorragiques, le Staphylocoque, etc.

Le bactériophage est facilement mis en évidence dans l'eau de Seine et en particulier contre le Colibacille et les dysentériques.

L'eau du Gange en renferme un actif selon toute vraisemblance contre le vibron cholérique.

Le crottin de cheval, les déjections des gallinacés, etc., en renferment un très actif contre les bacilles dysentériques.

L'examen méthodique des déjections de l'homme sain montre que le bactériophage est un hôte normal de l'intestin, mais sa virulence peut être plus ou moins atténuée; un peu de patience amène cependant le plus souvent à découvrir un germe contre lequel il est particulièrement actif.

Les bactéries de la flore intestinale jouissent d'une résistance acquise au bactériophage, mais une nouvelle espèce microbienne s'introduit-elle ? Petit à petit il se forme une accoutumance du bactériophage qui, graduellement, marque et augmente son activité pour cette espèce. C'est ce qui arrive dans les cas de dysenterie où la rétrogradation des symptômes correspond au développement de l'activité du bactériophage vis-à-vis du bacille. De même, on constate la présence du bactériophage actif contre le bacille d'Eberth à la convalescence d'une fièvre typhoïde.

Les recherches faites montrent que le bactériophage intestinal ne possède aucune virulence pour l'agent pathogène pendant la période d'état de la maladie, et que dans

les formes mortelles; en aucun cas, une activité bactériolytique contre le germe pathogène n'a pu être mise en évidence. Dans ces cas, le microbe en cause provient sans doute d'un organisme où il a acquis une forte résistance (résistance que l'on peut réaliser expérimentalement du reste) au bactériophage, ou alors le milieu intestinal est dans des conditions qui ne permettent pas le développement de l'ultra-microbe.

A tous ces faits viennent s'ajouter des observations de haute valeur scientifique, portant sur de grosses épidémies de typhose aviaire et de barbone du buffle, où l'existence, l'évolution et le rôle thérapeutique du bactériophage sont admirablement mis en lumière et peuvent être ainsi contrôlés expérimentalement.

L'intérêt qui s'attache à la question du bactériophage va croissant de jour en jour, et les problèmes soulevés sont nombreux et passionnants.

Sans plus insister sur des faits connus et admirablement relatés dans le livre de d'Hérelle, nous arrivons rapidement à l'exposé de ce que nous nous sommes proposés dans ces courtes recherches.

Le bactériophage étant un hôte normal de l'intestin humain où il joue peut-être un rôle policier de premier ordre, s'exaltant contre tel ou tel germe suivant les invasions, il nous a semblé intéressant de le rechercher chez le tout jeune enfant, le nourrisson, le nouveau-né, au moment où se constitue la flore intestinale. Préexiste-t-il aux microbes ? Cela semble peu probable. Apparaît-il rapidement un bactériophage actif contre les premiers germes qui se développent dans le tube digestif de l'enfant ? En ce cas, quelles sont les variations qu'il peut subir au fur et à mesure de l'évolution et de la stabilisation de la flore ?

Dans un autre ordre d'idées, il nous a paru encore plus intéressant de rechercher dans les états pathologiques gastro-intestinaux du nourrisson, variant des plus légers troubles digestifs qui durent à peine, jusqu'aux graves entérites cholériformes, s'il s'exaltait un bactériophage contre certains germes. Déjà F. d'Hérelle avait fait des recherches en ce sens, qu'il n'a pas encore publiées du reste. Ces études peuvent avoir, je crois, le gros intérêt de jeter un peu de lumière sur les causes microscopiques encore bien ignorées, de la pathologie intestinale du nourrisson.

Nous diviserons donc notre travail en deux parties :

Dans la première, nos recherches porteront exclusivement sur des nourrissons ou des nouveau-nés sains.

Dans la deuxième partie, nous ne nous occuperons que de nourrissons ayant ou ayant eu des troubles entéritiques.

Avant d'aller plus loin, nous exposerons d'abord la technique que nous avons suivie au cours de ces expériences et dont nous nous sommes écartés aussi peu que possible.

TECHNIQUE EMPLOYÉE POUR DÉCELER LA PRÉSENCE DU BACTÉRIOPHAGE

Le matériel nécessaire est des plus simples, et les recherches peuvent être effectuées dans le plus humble laboratoire, pourvu qu'il possède une étuve réglée à 37°.

Pour nos filtrations, nous adoptons l'appareil Martin en filtrant sur bougie de dedans en dehors, faisant le vide soit par aspiration avec la bouche, soit au moyen de la trompe à eau. Nous nous servons pour toutes nos expériences de la bougie de laboratoire en porcelaine, du type L. 3.

Toutes nos bougies sont montées dans un tube spécial destiné à recevoir le filtrat aseptique (bactériologiquement parlant), et le tout est stérilisé à 180° au four Pasteur.

Il faut signaler ici un petit point de technique particulier; comme la filtration d'une émulsion de matières fécales pourrait colmater rapidement les bougies, et rendre la filtration par trop lente ou impossible, le liquide dont nous nous servons est d'abord dégrossi sur un filtre en papier, sur lequel on a fait passer au préalable de l'eau distillée contenant en suspension une pincée de terre d'infusoires.

Les milieux que nous utilisons sont : le bouillon peptoné à peine alcalin de tous les laboratoires, et la gélose nutritive inclinée courante.

D'autre part, nous nous sommes constitué une collection de souches microbiennes, sérieusement contrôlées, pour pouvoir essayer l'action éventuelle de notre bactériophage.

Nous avons restreint notre choix à huit espèces microbiennes, que l'on peut rencontrer soit normalement, soit à l'état pathologique, dans les déjections des nourrissons. Ce sont :

Un colibacille;

Un proteus;

Un germe de la série paratyphique : le paratyphique B;

Les trois germes dysentériques courants : Shiga, Flexner, et Hiss;

Un entérocoque;

Un staphylocoque blanc.

Tous ces germes proviennent soit des souches de l'Institut Pasteur, sauf pour le bacille de Shiga qui m'a été donné par d'Herelle et le Staphylocoque qui a été isolé des selles en expériences.

Toutes nos souches ont été soigneusement repiquées et purifiées de la présence d'un bactériophage éventuel, suivant la méthode indiquée par Pozerski et Eliava.

Ainsi munis, le problème se posait de rechercher dans des selles, la présence d'un bactériophage actif contre une ou plusieurs des bactéries que nous avions en mains.

Dans une première série de manipulations, on prépare le filtrat; en second lieu, on fait agir ce filtrat sur une culture jeune en bouillon, des bactéries à l'étude.

Et, pour contrôle définitif, on étale largement à des temps déterminés sur des tubes de gélose inclinée le mélange culture - filtrat, pour essayer d'obtenir des plages de lyse dans la culture confluyente, ce qui nous permettra ou non d'assurer la présence d'un bactériophage actif.

1^o Préparation du filtrat.

Les déjections étant recueillies aseptiquement, et ici, nous faisons remarquer que faute d'une technique suffisante nous avons dû rejeter plusieurs expériences; c'est ainsi que nous avons recueilli, dans le service du professeur Marfan, des déjections d'enfant soit directement à

l'anus, soit dans les couches. Ces déjections étaient polluées avec la poudre isolante employée dans le service, poudre qui contient en particulier du chlorure de chaux et de l'acide borique. Ce dernier corps pouvait être surtout nocif au bactériophage, qui est très sensible aux actions des acides, même faibles. Pour remédier à cet inconvénient, nous nous sommes mis le plus possible à l'abri des causes d'erreur de ce genre, en nettoyant au préalable l'enfant, et recueillant soit directement les matières à l'anus, soit, quand nous avons pu le faire, au moyen d'une sonde rectale, et d'une petite seringue aspiratrice.

Un ou deux centimètres cubes de déjections sont alors émulsionnés dans 20 centimètres cubes de bouillon nutritif. Le tout est placé à l'étuve à 37° pendant vingt-quatre heures. Il se produit une fermentation qui désagrège complètement la masse des matières.

On dégrossit alors le liquide sur terre d'infusoires comme nous l'avons indiqué, puis on filtre sur bougie et le liquide clair, bactériologiquement aseptique, qui en résulte, doit ou non contenir le bactériophage.

2° *Action du filtrat sur les cultures en bouillon*

Pendant ces opérations, on prépare des cultures des germes à étudier, deux tubes de chaque, de façon que l'un des deux serve de témoin.

Au bout de douze à quinze heures d'étuve, les cultures sont assez développées, on en fait deux séries identiques. Dans chaque tube de l'une on ajoute 1 centimètre cube du filtrat, alors que l'autre série est laissée telle qu'elle.

Tous les tubes sont placés à l'étuve à 37° et l'on suit pendant quarante-huit heures à intervalles réguliers l'apparition possible d'un éclaircissement du milieu.

3° Recherche des plages de lyse sur la gélose inclinée

Au bout de trois heures d'étuve, on prélève IV ou V gouttes du mélange culture + filtrat, que l'on étale largement à la surface d'un tube de gélose inclinée et l'on place à l'étuve.

On peut répéter un semblable étalement sur un autre tube de gélose au bout de vingt-quatre heures.

Après une incubation suffisante, on note s'il y a ou non des plages de lyse, si la culture présente des anomalies ou, en cas de bactériophage très actif, si rien n'a poussé.

Il est commode de réunir toute cette série de tubes dans un portoir à quatre rangées, où l'on peut ainsi lire facilement l'expérience.

Mais, de cette façon, si l'on est certain de pouvoir diagnostiquer un bactériophage actif contre les germes étudiés, on peut fort bien passer à côté d'un bactériophage non exalté.

C'est pourquoi, et en particulier dans les expériences portant sur des sélies normales, nous avons cherché à exalter la virulence par des passages successifs sur des cultures jeunes.

L'expérience faite comme précédemment ne donnant aucun résultat au bout de vingt-quatre heures, chaque mélange culture X + filtrat émulsionné avec les cultures sur gélose correspondante, est à nouveau filtré sur bougie. Le nouveau filtrat F² est alors ajouté aux mêmes doses, soit X gouttes dans 10 centimètres cubes de culture de huit à quinze heures de la bactérie X. Un étalement est fait de même sur gélose inclinée et l'on attend encore quarante-huit heures. Si, au bout de ce temps, aucune lyse

n'est notée, on répète l'opération précédente; un filtrat F³ est obtenu et additionné encore à une culture jeune. En poussant l'expérience jusqu'à l'essai d'un quatrième filtrat, si aucune plaque et aucune modification n'est obtenue dans les cultures, soit sur gélose, soit en bouillon, nous pouvons penser que les selles examinées ne renferment pas de bactériophage non seulement actif, mais facilement exaltable pour les espèces microbiennes étudiées, qui comptent du reste parmi les plus facilement lysables.

Notre technique établie, deux questions nous sont venues à l'esprit :

1° La technique est-elle bonne et trouverons-nous réellement du bactériophage là où il existe ?

2° Les cultures, dans ces filtrations successives ne se lyseront-elles point d'elles-mêmes, comme le dit M. Weinberg dans une récente communication à la Société de Biologie, et alors nous irions chercher trop loin l'origine de notre bactériolyse ?

La première question était peu embarrassante, nous avons déjà eu des résultats probants dans des essais antérieurs de lyse par le bactériophage. Toutefois, il nous a paru utile de contrôler sérieusement notre technique en recherchant le bactériophage à un endroit où nous étions à peu près certain de le trouver.

C'est ainsi que nous avons fait des recherches sur l'eau d'effusion de l'usine purificatrice de la Madeleine-lès-Lille.

Cette eau, filtrée sur bougie L³, a été ajoutée à des cultures jeunes en bouillon de bacilles : coli, Shiga, Flexner, Hiss, proteus et para B. Des étalements ont été faits sur gélose au bout de trois heures de contact et le lendemain nous avons pu constater la présence de très nombreuses plages de lyse sur la culture du paratyphique B; la cul-

ture de coli avait poussé, mais assez maigrement. On notait encore 4 plages de lyse pour le Flexner, 3 pour le Hiss, 1 pour le Shiga. Le proteus n'avait pas été touché.

Nous pouvons donc conclure à la présence d'un bactériophage actif contre le para. B et le coli; un peu moins actif pour les bacilles dysentériques. Sur ce point, notre technique semble donc bonne.

Il nous reste donc à constater si nos cultures ne se lysent pas d'elles-mêmes. Nous avons dans ce but fait une expérience témoin avec chacune des espèces microbiennes que nous possédons, en opérant exactement comme nous avons relaté plus haut pour exalter un bactériophage contre les germes donnés, mais sans ajouter au début de l'expérience de filtrat de matière fécale.

Nos huit souches sontensemencées en bouillon et pour suivre de plus près nos expériences, nous faisons même un étalement sur des tubes de gélose inclinée au bout de douze heures de culture.

Après quarante-huit heures, la culture en gélose est émulsionnée avec la culture en bouillon. L'émulsion est filtrée sur une bougie L.³ et ce filtrat est ajouté à une culture en bouillon, de douze heures de nos huit germes; nous avons continué à opérer exactement alors comme nous l'avons dit jusqu'à l'essai du quatrième filtrat, ce qui correspond à cinq passages.

En aucun cas, pour aucune des espèces bactériennes étudiées, nous n'avons dans cette expérience, constaté l'apparition de plages sur la gélose, pas plus que le moindre éclaircissement du milieu liquide.

PREMIÈRE PARTIE

RECHERCHE DU BACTÉRIOPHAGE CHEZ LE NOURRISSON SAIN

A la naissance et dans les quelques heures qui suivent, le tube digestif de l'enfant et le méconium qui en est issu sont parfaitement stériles; mais, très vite, dès les premières déglutitions, dès les premiers contacts avec les êtres vivants, le milieu ambiant et la nourriture, les microbes apparaissent dans les selles de l'enfant. A la phase stérile succède une phase d'infection croissante avec prédominance du staphylocoque blanc, du bacille coli et de quelques anaérobies, l'organisme réagit par une desquamation épithéliale du tube digestif.

Vers le quatrième jour, chez le nourrisson au sein, plus tard et incomplètement chez celui nourri au biberon, la flore se transforme et se stabilise. Les bacilles anaérobies, prennent le dessus et surtout le bacille bifidus, dont les selles du nourrisson au sein sont presque une culture pure. La partie aérobie, plus restreinte, est représentée surtout par le colibacille, l'entérocoque, le bacille *actis aerogenes*, quelques sarcines.

Le septième jour, la flore est stabilisée et d'une fixité assez remarquable dans sa composition, surtout pour les enfants nourris au sein.

On conçoit donc que dans toute cette évolution de germes, jusqu'à l'établissement définitif d'un type de flore

intestinale, il doit paraître intéressant de rechercher s'il existe un bactériophage plus ou moins actif contre quelques-unes des bactéries de cette flore. D'autre part, si ce bactériophage existe, quelles variations subit-il au cours de la lutte des espèces microbiennes ?

Nous avons choisi comme germe d'étude trois microbes, normalement rencontrés dans les selles du nourrisson : le colibacille, l'entérocoque et le staphylocoque blanc. D'autre part, nous avons recherché en même temps s'il ne se formait pas un principe lytique contre le proteus, contre un représentant des bacilles de la série paratyphique, le paratyphique B, et enfin contre un représentant de la série dysentérique, le bacille de Hiss.

Si réellement il doit exister un bactériophage lysant soit d'autres typhiques ou paratyphiques, soit d'autres bacilles dysentériques, après quelques passages en culture, il aura vite fait, comme les expériences l'ont montré, d'exalter sa virulence pour les microbes que nous avons choisis.

Nous avons fait porter nos recherches sur des nourrissons d'âges différents.

Dans une première série d'expériences, voyons deux observations portant sur des nouveau-nés ayant moins de vingt-quatre heures d'existence.

OBSERVATION I (1). — Il s'agit d'un enfant du sexe féminin né le 10 avril 1922 à 16 heures à la maternité. Cet enfant est nourri au sein, il est très bien portant.

1. Les observations publiées ici n'ont pas été choisies particulièrement, il m'a suffi de me rendre dans une salle de malades de l'importe quel hôpital d'enfants et de solliciter de l'amabilité d'un camarade interne, de bien vouloir m'indiquer des enfants pouvant m'intéresser. C'est ainsi que j'ai pu réunir quelques observations en

Le 11 avril, au « change » de 8 heures du matin nous prélevons du méconium typique. Ce méconium émulsionné en bouillon, gardé vingt-quatre heures à l'étuve, nous a donné un filtrat. Trois passages successifs avec filtration intermédiaire ne peuvent nous révéler l'existence d'un bactériophage actif contre le colibacille, l'entérocoque, le staphylocoque, le bacille de Hiss, le bacille paratyphique B. ou le proteus.

Un rapide examen bactériologique nous montre que les selles, bien que peu riches en microbes, ne sont plus stériles, mais contiennent déjà des germes anaérobies immobiles, et quelques aérobies, du colibacille et du bacille lactis aérogènes probablement.

OBSERVATION II. — Examen de méconium provenant d'un enfant sain, du sexe masculin, venu à terme le 12 avril 1922 et pesant 3 kgr. 600.

Le prélèvement a été fait dix heures après la naissance.

Un examen bactériologique rapide des déjections, ne nous a donné que quelques colonies muqueuses d'un bacille Gram négatif provenant plus probablement de la couche que de l'intestin du nouveau-né.

Le filtrat ne s'est montré bactériolytique pour aucun des six germes essayés, même après trois passages.

Ce méconium ne renferme donc pas de bactériophage exaltable contre les bacilles de Hiss, paratyphique B. colibacille, proteus, ainsi que contre l'entérocoque et le staphylocoque.

Comme on pouvait le supposer, et avec l'appui un peu maigre toutefois de ces deux observations, il ne semble pas y avoir de bactériophage actif ou exaltable contre les germes courants de l'intestin du nouveau-né dans les premières vingt-quatre heures de la vie.

Voyons maintenant s'il en est toujours ainsi dans les jours qui suivent.

m'adressant soit à l'hôpital des Enfants-Assistés, soit à celui des Enfants-Malades, soit à la Maternité, soit à l'hôpital de Versailles et j'ai trouvé partout un excellent accueil.

OBSERVATION III. — Il s'agit des selles d'un enfant de 4 jours, du sexe féminin, né à la Maternité le 9 avril 1922, à terme, paraissant normal et pesant 3 kgr. 200.

Les selles ont un aspect mélangé jaune vert banal.

Le filtrat essayé sur les mêmes espèces microbiennes que précédemment, ne nous a décelé aucune trace de bactériophage actif contre ces germes, même après quatre passages.

OBSERVATION IV. — Nous avons prélevé le 13 avril 1922 à 8 heures du matin, les selles normales d'un enfant du sexe masculin, né le 7 avril 1922, par conséquent âgé de 6 jours. L'enfant né à terme paraît normal, il est nourri au sein, et pèse 3 kgr. 570. Les selles jaunâtres nous donnent un filtrat sans action lytique même après quatre passages sur les bacilles de Hiss, paratyphique B, proteus ainsi que sur le coli, l'entérocoque et le staphylocoque blanc.

OBSERVATION V. — Il s'agit d'un enfant de neuf jours, né le 4 avril 1922 à la Maternité, il est nourri au sein, est en bonne santé, présente des selles normales. Le prélèvement est fait le 13 avril à 8 heures du matin. Le filtrat ne s'est montré en aucune façon bactériolytique même après quatre passages sur les bacilles: paratyphique B et de Hiss, ainsi que sur le colibacille, le staphylocoque, l'entérocoque et le proteus.

Nous arrêterons cette première série d'observations négatives par celle-ci :

OBSERVATION VI. — Il s'agit cette fois d'un enfant du sexe féminin, né à la Maternité le 3 avril 1922, avant terme (prématuré de 7 mois). Il est nourri au sein mais s'alimente peu, l'état général est cependant bon, bien que le poids soit assez faible : 1 kgr. 180.

Les selles qui sont normales sont prélevées le 11 avril 1922, soit huit jours après la naissance.

Le filtrat traité comme les autres fois, ne s'est pas montré bactériolytique malgré 3 passages, pour les cultures des 6 bacilles mis à l'épreuve.

Ces six faits négatifs montrent donc qu'il ne semble pas, chez le nouveau-né, y avoir comme chez l'adulte, un bactériophage actif contre les espèces intestinales ordinaires ou tout au moins contre les germes que nous avons étudiés.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHE DU BACTÉRIOPHAGE DANS LES TROUBLES GASTRO-INTESTINAUX DU NOURRISSON

Comme dans ces cas il s'agit de rechercher la présence d'un bactériophage exalté contre un germe pathogène, nous l'essayerons d'abord sur tous les bacilles dysentériques que nous avons en mains. On sait que les bacilles dysentériques, soit le bacille de Shiga, soit les bacilles dits atoxiques de Flexner et de Hiss, ont été incriminés comme agents pathogènes de certaines diarrhées infantiles. Dans cet ordre d'idée, il aurait été aussi très intéressant de rechercher l'action sur le bacille de Morgan qui a aussi été très mis en cause, mais la souche nous manquait. A ce point de vue, signalons que F. d'Herelle n'a jamais pu obtenir la lyse du bacille de Morgan (utilisant les souches 1 et 2, provenant de Londres), au cours de 40 examens positifs de selles d'enfants.

Parmi les germes que nous avons choisis se trouve encore le *Proteus*, dont Metchnikoff voulait faire l'agent pathogène de la diarrhée infantile en général. De même, ont été incriminés par différents auteurs, dans des cas plus ou moins différents, le colibacille, les bacilles typhiques et paratyphiques, l'entérocoque et bien d'autres germes que nous regrettons de n'avoir pu expérimenter.

Nous allons d'abord examiner des selles de nourrissons atteints de troubles aigus ou subaigus plus ou moins ba-

naux, et de diarrhée cholériforme qui fait partie d'un syndrome beaucoup plus net.

Dans une deuxième partie de ce chapitre, nous ne nous occuperons que de selles de convalescent de gastro-entérite quelconque ou de diarrhée cholériforme.

4. — Examens portant sur des nourrissons atteints de gastro-entérite plus ou moins aiguë, ayant au moins un peu de diarrhée accompagnée d'hyperthermie.

OBSERVATION VII. — Enfant G .. Jacqueline, n° 33, Nourricerie Billard, service du professeur Marfan. Venue à terme en avril et pesant 3 kgr. 350 à la naissance, nourrie au sein avant son entrée à l'hôpital pour otite. Cette otite semblait aller mieux, quand brusquement le 19 mai, la température s'élève à 38 degrés : l'enfant pendant quelques jours a alors des selles diarrhéiques.

Il y avait déjà du mieux, bien que le facies soit encore tiré, que la diarrhée persiste avec un peu de fièvre, quand le 25, nous avons fait nos prélèvements.

Le filtrat de ces déjections n'a pu nous révéler de bactériophage actif pour les bacilles dysentériques de : Shiga, Flexner et Hiss, ni pour le colibacille, le paratyphique B et l'entérocoque.

Comme huit jours plus tard nous revenions chercher des selles, on nous apprend la mort de l'enfant.

OBSERVATION VIII. — F... Ermide, n° 45. Nourricerie Billard. Venue à terme le 30 avril 1922, nourrie au sein mais d'un état général médiocre, avec des ulcérations dans la gorge.

Le 20 mai, la température s'élève à 38 degrés et l'enfant reste depuis dans un état subfébrile, avec des selles un peu plus liquides qu'à l'ordinaire ; elle a un facies un peu grippé.

L'état reste stationnaire, le 25 avril nous prélevons des selles dont le filtrat n'a décelé aucun bactériophage actif contre nos trois souches de bacilles dysentériques, et contre les autres germes d'étude.

L'enfant est morte quelques jours après.

OBSERVATION IX. — E... Marcelle, n° 15, salle Billard, enfant débile de 38 jours, dont l'état reste subfébrile depuis le début du mois de mai.

Elle est nourrie au lait condensé. Ses selles sans être franchement diarrhéiques sont mollasses et un peu sales.

Prélevées le 25 mai, les selles se sont montrées inactives pour les trois bacilles dysentériques, le colibacille, le proteus et le paratyphique B.

L'enfant est morte la semaine suivante.

OBSERVATION X. — B... G., Crèche de Versailles, entre le 24 mai 1922 avec des signes d'intoxication, yeux cernés, traits tirés, diarrhée abondante, température à 39 degrés. Le soir même nous prélevons des selles dont l'examen ne nous a révélé aucun bactériophage actif contre les bacilles dysentériques de Shiga, Flexner et Hiss, pas plus que contre nos autres germes, même après deux passages.

Donc, six fois sur six, dans des examens de selles de nourrissons atteints de troubles digestifs en évolution, nous n'avons pu déceler de bactériophage actif contre nos germes.

B. — Examens portant sur des déjections de nourrissons convalescents de troubles diarrhéiques.

Jusqu'ici, nous n'avons pas trouvé de bactériophage; en sera-t-il de même dans ces cas, comparables, somme toute, aux cas où chez l'adulte le bactériophage se trouve avec toute sa netteté.

Nous allons voir que, cette fois, nos recherches seront positives et cela dans tous les cas.

OBSERVATION XI. — Enfant de 11 mois, R... Madeleine, entrée à l'hôpital des Enfants-Malades pour bronchite et adénopathie trachéo-bronchique. Son état s'améliore, mais le 25 mai elle a eu quelques selles diarrhéiques avec élévation thermique à

38 degrés, état qui a persisté pendant quelques jours. Quand nous voyons l'enfant il est en bonne santé depuis quatre à cinq jours et a fait deux selles jaunes, bien liées, par vingt-quatre heures. L'enfant est nourrie au lait stérilisé. L'étude du filtrat des selles nous montre au premier passage l'existence d'un bactériophage très actif contre le proteus (nous avons eu juste cinq colonies sur notre gélose de 3 heures). Il existe d'autre part un bactériophage moins actif, mais encore net pour le colibacille et le bacille de Flexner qui ont poussé donnant des colonies non confluentes et échancrées. Nous avons noté en outre trois plages de lyse pour le bacille de Hiss.

OBSERVATION XII. — Il s'agit d'un enfant du sexe masculin nourri au sein âgé de 6 mois, en traitement à l'hôpital des Enfants-Malades, salle Husson. Il a présenté pendant dix jours des selles jaunes sales liquides avec élévation de température oscillant entre 38 et 39 degrés.

Quatre jours après le retour à l'état normal, un examen des selles nous montre la présence d'un bactériophage actif, lysant complètement dans les tubes de gélose de 3 heures, les bacilles de Flexner et de Hiss, donnant de nombreuses plages de lyse dans les mêmes conditions pour le bacille de Shiga, un peu moins actif contre le proteus et le colibacille, et complètement inactif contre le paratyphique B et l'entérocoque.

OBSERVATION XIII. — Ch... Ginette, née le 23 mars 1922, entrée à la crèche de l'hôpital de Versailles dans le service du Dr Mauger le 21 mai, avec une diarrhée aqueuse verdâtre, une hyperthermie à 38°5 et des signes d'intoxication.

Le 11 juin, l'enfant était guérie, depuis cinq jours nous prélevons des selles normales. L'examen de ces selles nous révèle immédiatement la présence d'un bactériophage, actif contre le bacille de Shiga dont il lyse complètement la culture sur gélose. Aucune lyse ne peut être notée pour les bacilles de Hiss et de Flexner, pour le colibacille, le paratyphique B et l'entérocoque.

OBSERVATION XIV. — H... Georges, né le 20 février 1922, enfant chétif, hérédosyphilitique, poussant mal, en traitement à la crèche de l'hôpital de Versailles présente des troubles gastro-intestinaux peu accentués sans fièvre, du 20 au 25 mai. Les

selles redevenues normales, la courbe de poids étant ascendante, on fait un examen qui nous décèle la présence d'un bactériophage très actif contre le bacille de Shiga qu'il lyse complètement, et inactif contre nos autres espèces microbiennes.

OBSERVATION XV. — A... Simone. Née le 17 mars 1922, bien portante jusqu'alors, entre à l'hôpital des Enfants-Assistés le 10 juin 1922. Il s'agit là sans doute d'une diarrhée cholériforme, l'enfant a un faciès grippé, les yeux excavés et des signes de déshydratation, il est atteint de diarrhée nette, aqueuse, jaune sale. Mis immédiatement à la diète et aux bains.

Le 14, l'état général est bien amélioré, la température est normale, on prélève à la sonde des selles encore un peu molles.

Le filtrat essayé nous révèle la présence d'un bactériophage très actif contre le bacille de Shiga (lyse presque totale de la culture sur gélose) et d'un bactériophage faiblement actif contre le proteus (2 plages). Il n'existe aucune lyse pour les cinq autres germes essayés, bacilles de Flexner et de Hiss, colibacille, paratyphique B et entérocoque.

OBSERVATION XVI. — J... Yvette, née le 21 mai 1922, en traitement à l'hôpital des Enfants-Assistés, pour abcès multiples, le 9 juin. Les selles deviennent liquides. Sa température s'abaisse à 36°. Son état général s'aggrave.

Le lendemain elle allait déjà mieux.

Le 14, nous prélevons des selles normales dont le filtrat nous révèle l'existence d'un bactériophage très actif contre le bacille de Shiga, inactif au premier passage pour nos six autres germes.

OBSERVATION XVII. — T... André, né le 14 février 1922 à l'hôpital de Versailles, nourri au sein, bien portant jusqu'au 29 mai. Pendant quatre jours l'enfant voit sa température osciller en 38 et 39, en même temps que ses selles devenaient liquides et verdâtres, avec signes nets d'intoxication.

Revenu à la normale, le 10 juin nous prélevons des selles jaunes, bien liées dans lesquelles nous trouvons un bactériophage actif contre le bacille de Flexner, moins actif contre le bacille de Hiss 4 plages sur la gélose de 3 heures, et inactif contre nos autres germes.

Dans toute cette dernière série d'observations, nous avons donc trouvé un bactériophage actif :

Quatre fois contre le bacille de Shiga		
Trois	—	Flexner
Trois	—	Hiss
Trois	—	Proteus
Trois	—	Colibacille

Jamais contre le bacille paratyphique B ou l'entérocoque. Ces observations sont absolument superposables à celles faites par d'Herelle dans des cas analogues. Quoi qu'il en soit, bien que le bactériophage ne puisse être exalté spécifiquement contre un germe unique, qu'on pourrait croire le germe pathogène de l'infection, ces expériences n'en sont pas moins des plus intéressantes, ne serait-ce que parce qu'elles mettent malgré tout en valeur le rôle d'espèces microbiennes variées dans les diarrhées infantiles.

CONCLUSIONS

I. Chez le nourrisson sain, n'ayant jamais présenté de trouble intestinal, à plus forte raison chez le nouveau-né, il ne semble pas y avoir dans les déjections de bactériophage, tout au moins exaltable contre les bacilles : coli, paratyphique B, dysentérique de Hiss, et contre l'entérocoque et le staphylocoque, contrairement à ce qu'on peut presque toujours mettre en évidence chez l'adulte.

II. Chez le nourrisson en période de diarrhée aiguë ou chronique tout comme chez un dysentérique en période d'état, on ne décèle pas la présence d'un bactériophage actif contre les bacilles dysentériques de Shiga, de Flexner et de Hiss, pas plus que contre le colibacille, le paratyphique B, l'entérocoque et le *Proteus*.

III. Chez le nourrisson convalescent d'un trouble intestinal quelconque, si les selles sont redevenues normales, s'il n'y a plus de fièvre, on met toujours en évidence, ainsi que près de quarante expériences non publiées de d'Herelle et sept de nos observations l'ont montré, l'existence d'un bactériophage très actif contre un ou plusieurs des germes suivants : Bacilles de Shiga, de Flexner et de Hiss; Bacille coli et *Proteus*.

IV. De ces faits on peut induire que le bactériophage apparaît et s'exalte chez l'enfant à l'occasion du premier trouble intestinal quelque bénin qu'il soit; si l'in-

fection bactérienne prend d'emblée une grosse importance et entraîne la mort de l'enfant, il n'y a pas de bactériophage.

V. Dans ces expériences, comme dans celles de d'Hérrelle auxquelles nous avons fait allusion, on remarque que la lyse est particulièrement fréquente pour les bacilles de Flexner et de Hiss ainsi que pour le *Proteus*.

D'après ces faits, il semble qu'il ne faut peut-être pas nier complètement le rôle que Metchnikoff attribue dans certaines diarrhées infantiles, au bacille proteus, microbe à tout faire, gros ferment putride, et sans doute beaucoup moins saprophyte qu'on ne le pense.

De même, ces faits doivent attirer à nouveau l'attention sur l'opinion émise par plusieurs auteurs, anglais et américains, qui incriminent les bacilles dysentériques dits atoxiques (B. de Flexner et de Hiss) dans les troubles très fréquents de gastro-entérite du nourrisson.

Vu : le Président de la thèse,
MARFAN

Vu : le Doyen,
ROGER

Vu et permis d'imprimer,
Le Recteur de l'Académie de Paris,
P APPELL

BIBLIOGRAPHIE

SUR LE BACTÉRIOPHAGE

- Herelle (F. d').* — Le bactériophage et son rôle dans l'immunité, 1 vol. chez Masson, 1921. 227 p.
- Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques (C. R. Ac. Sciences, t. CLXV, p. 373, 10 sept. 1917).
- Les processus de défense contre les bacilles intestinaux et l'étiologie des maladies intestinales (C. R. Ac. Sciences, t. CLXX, p. 72, 5 janv. 1920).
- C. R. Soc. Biol., t. LXXXII, p. 1237, 29 nov. 1919 ; t. LXXXIII, p. 1322, 23 oct. 1920 ; t. LXXXV, p. 701-767 ; t. LXXXVI, 1922, p. 883.
- Sur les antilyssines d'origine microbienne (C. R. Soc. Biol., 18 févr. 1922, p. 360).
- Sur la prétendue production d'un principe lytique sous l'influence d'un antagonisme microbien (C. R. Soc. Biol., 25 mars 1922, p. 665).
- Hérelle (D') et Pozerski.* — Action de la température sur le bactériophage (C. R. Soc. Biol., LXXXV, p. 1011).
- Pozerski (E.) et Eliava.* — Sur les caractères nouveaux présentés par le b. de Shiga ayant résisté à l'action du bactériophage. Action destructive des sels de quinine sur le bactériophage (C. R. Soc. Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 708).
- Bordet et Ciuca.* — Le bactériophage de d'Herelle, sa production et son interprétation (C. R. Soc. Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 1296 ; t. LXXXIV, 1921, p. 745, 748 ; t. LXXXV, 1921, p. 1095).
- Dumas (J.).* — Sur la présence du bactériophage de d'Herelle dans l'intestin sain, dans la terre et dans l'eau (C. R. Soc. Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 1314).

- Salimbeni.* — Sur la nature du bactériophage de d'Herelle (C. R. Ac. des Sc., t. CLXXI, 1920, p. 1240; C. R. Soc. Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 1545).
- Gratia (A.).* — C. R. Soc. Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 275, 750; t. LXXXV, 1921, p. 25, 251.
- Maisin.* — C. R. Soc. Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 467, 755.
- Debré (R.) et Haguenau.* — C. R. Soc. Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 1348.
- Bruynoghe (R.).* — C. R. Soc. Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 847; t. LXXXV, 1921, p. 20, 288, 1122.
- Bekerich et Hauduroy.* — Le bactériophage dans le traitement de la fièvre typhoïde (C. R. Soc. Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 168, 881).
- Lisbonne et Carrère.* — Antagonisme microbien et lyse transmissible du b. de Shiga (C. R. Soc. Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 569).
- Weinberg et Aznar.* — Antibactériolysines et le phénomène de d'Herelle (C. R. Soc. Biol., LXXXVI, p. 883).

SUR LES DIARRHÉES INFANTILES ET LA BACTÉRIOLOGIE
INTESTINALE DU NOURRISSON

- Tissier.* — Recherches sur la flore intestinale normale et pathologique du nourrisson. Thèse Paris, 1900.
- Morgan (H. de R.).* — Sur la bactériologie de la diarrhée estivale infantile (Brit. med. Journ., I, 1906, p. 908, II, 1907, p. 16).
- Proc. Roy. Soc. med., II, 1909, p. 133.
- Orr (J.) Williams (R.), etc.* — Lancet I, p. 301, 1909.
- Hutinel.* — Traité des maladies des Enfants (Ch. Baillière, t. III).
- Pironneau.* — Diarrhées infantiles. Th. méd., Paris, 1912.
- Office international d'hygiène publique (Bulletin).* Quelques acquisitions récentes sur l'étiologie et la pathogénie de la diarrhée estivale infantile, 1913, t. V, p. 591.
- Metchnikoff.* — Sem. méd., 1909, p. 361.
- Marfan.* — Etude historique et critique sur les affections de l'appareil digestif dans la première enfance, 1 vol., 1918, chez Baillière.
- Introduction à l'étude des affections des voies digestives dans la première enfance, 1 vol. 1920. Baillière.